Таблица 2

Уровень специфических антител в сыворотке крови вакцинированных цыплят, установленный в РА (титры антител в log_2(M±m))

№	Группы	Дни исследований после иммунизации				
		7	28	45	60	90
1	Липосомальная вакцина	6,1±0.2	9,4±0,3	9,7±0,2**	9,6±0,1**	9,7±0,2
2	ГОА формолвакцина	5,4±0,5	7,10,5	7,4±0.5	6,9±0,4	6,8±0,3
3	Контроль	Н/О	Н/О	Н/О	0,5±0,1	0,7±0,1

** По сравнению с контролем вакцины.
Примечание. Н/О – не обнаружено.

тивные изменения, проявляющиеся, в основном, в отслоении наружной и цитоплазматической мембран, показаны лишь у незначительной части бактерий, обработанных АЭЭИ, при этом целостность большинства клеток E. coli №389(О78) остается неизменной.

Из представленных выше данных следует, что инактивированная липосомальная вакцина по совокупности таких показателей, как безвредность и антигенная активность, является более оптимальной при специфической профилактике колибактериоза птицы, чем ГОА формолвакцина.

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты исследования влияния аминоэтилэтиленимина на морфологические и антигенные свойства, на электронно-микроскопическом уровне проанализирован процесс инактивации клеток Escherichia coli. Установлена более выраженная антигенная активность липосомальной вакцины по сравнению с гидроокись алюминиевой формолвакциной.

SUMMARY

The results of the study of aminoethylethylenimine influence on morphology, antigenic properties and the process of Escherichia coli cells inactivation are presented in the report. The researches required were made and it was established that the liposome vaccine is more active in comparison with formaldehyde inactivated aluminium hydroxide vaccine.

Литература

1. Прунтова О.В., Русалеев В.С., Гневашев В.М., Колотилова Т.Г., Потехин А.В. Инактивация сальмонелл димером этиленимина // Биотехнология, 2001, №6, С. 43-46.
2. Ширяев Ф.А., Русалеев В.С., Гневашев В.М., Прунтова О.В., Семёнова Г.М., Городенцев А.В., Шадрова Н.Б. Инактивация бактерий Haemophilus parasuis формалином и аминоэтилэтиленимином: Материалы по теме работы круглого стола приуроченного к 80-летию академика РАСХН И.А.Бакулова. Покров: ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии. 2005. С. 240-244.
3. Barteling S.J., Cassim N.I. Very fast (and safe) inactivation of foot-and- mouth disease virus and enteroviruses by a combination of binary ethylenimine and formaldehyde. Dev Biol (Basel) 2004. V.119. P. 449-455.
4. Mondal S.K., Neelima M., Seetha Rama Reddy K., Ananda Rao K., Srinivasan V.A. Validation of the inactivant binary ethylenimine for inactivating rabies virus for veterinary rabies vaccine production. Biologicals. 2005 Sep. V. 33 (3) P.185-189.
5. Brenner S., Horne R.W. A negative staining method for high resolution electron microscope of virusis \\ Biochim. Biophys. Acta. 1959. V. 34. № 1. P. 103-110.

А.В. Бокарев, А.А. Стекольников, Е.В. Бокарева

(Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины)

ALP-ИЗОФЕРМЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА ЗАБОЛЕВАНИЙ КОСТНОЙ И ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМ СОБАК МЕТОДОМ WGA-ПРЕЦИПИТАЦИИ. ИССЛЕДОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ МЕТОДА

Введение

Практически любые, даже локальные, патологические изменения печени характеризуются системными проявлениями. Кроме того, одним из свойств печеночной недостаточности является неоднородность ее

проявлений. Т.е. в процессе заболевания печени ее функции угнетаются неравномерно (10, 14, 16). Поэтому некоторые из первичных гепатопатологий могут маскироваться вторичной симптоматикой, т.е. имитировать другие заболевании, например заболевания костной системы (15, 20, 28). Связь между работой печени и состоянием костной системы достаточно очевидна.

Нормальная работа костной системы базируется на метаболизме кальция. В то же время известно, что кальций находиться в плазме крови в двух формах: физиологически активной, т.е. ионизированной (около 60%) и физиологически неактивной, связанной с белками (преимущественно с альбумином) (5, 13, 15). Синтез основных белков, главный из которых альбумин, осуществляется в печени (10, 16, 20). Нарушение функции печени, сопровождающееся гипопротеинэмией, ведет к уменьшению доли связанного кальция и увеличению йонизированного. И наоборот гиперпротеинемия ведет к уменьшению йонизированного кальция (5). Кроме вышесказанного, следует добавить, что печень осуществляет инактивацию основных гормонов, поэтому при поражении печени концентрация этих гормонов может повышаться, что в свою очередь, так же негативно отражается на состоянии кальций/фосфорного обмена (16, 23, 29, 31, 35).

Таким образом, проявления различных заболеваний печени могут нести в себе чрезвычайно любопытные черты неспецифичности, и поэтому только совокупность исследований позволяет решать вопросы этиологии и нозологической принадлежности того или иного патологического процесса.

Однако в клинической практике врача имеют место такие случаи, когда традиционно принятые лабораторные тесты не дают однозначно интерпретируемого результата. Если рассматривать проблему гепатопатий, то здесь мы можем столкнуться с безжелтушными формами гепатита, а так же с гепатитами и (или) гепатозами при которых уровень активности сывороточных трансаминаз не превышает референтных величин (1, 8, 10, 14, 16, 20). При патологии костной системы (вопреки устоявшемуся мнению) низкой диагностической ценностью обладает определение сывороточного кальция. Так как регуляция кальциевого гомеостаза столь совершенна, что нарушения в одних звеньях его метаболизма легко компенсируются изменениями других, и уровень кальция в крови выходит за пределы референтных величин лишь при запредельно тяжелых регуляторных нарушениях (2, 5, 11, 12, 13,15, 23, 24).

С другой стороны, как при патологии печени, так и при патологии костной системы в крови количественно и (или) качественно изменяется активность ALP. Следует учесть, что общая активность ALP в сыворотке человека и животных может быть суммой изоферментных активностей, имеющих печеночное, кишечное, костное, плацентарное (в течении беременности) , а у собак еще и стеройдиндуцированное происхождение (3, 4, 6, 10, 29, 30, 34, 36). Поэтому точное измерение активности костного и (или) печеночного изофермента требует их предварительного отделения от других. Плацентарный и стеройд-индуцированные изоферменты не являются постоянно присутствующими в крови собак. Кроме того, эти изоферменты легко обнаруживаются и диффреренцируются в сыворотке крови в связи с тем, что резистентены к ингибированию левамизолом, тогда как печеночный и костный чувствительны (4, 14, 17). Кишечный изофермент ALP у собак практически не участвует в формировании общего уровня ферментативной активности сывороточной ALP так как имеет очень малый период полураспада (20). Наиболее сложно отделить костный изофермент ALP от печеночного, так как оба эти изофермента являются продуктами одного гена и отличаются только в отношении посттрасляционного гликозилирования (29). Однако качественные и количественные различия в гликозилировании костного и печеночного изоферментов ALP обусловливают их различия в преципитации лектинами, белками, не относящимися к классу иммунных, но способных к обратимому связыванию с углеводной частью гликоконьюгатов без нарушения ковалентной структуры любых из узнаваемых гликозильных остатков (7, 17, 20, 21, 22, 33).

Лектины имеют два или более участка связывания, поэтому, как и антитела, они могут сшивать белковые молекулы, содержащие соответствующие углеводные остатки, и образовывать преципитаты. Поэтому лектины используются в роли специфических агентов, избирательно сорбирующих те или иные сложные вещества: гликопротеиды, гормоны, сиалопротеиды и ферменты (7).

Между некоторыми ALP-содержащими образцами и такими лектинами как WGA, Jacalin, Con-A и HPA было обнаружено селективное взаимодействие (22). Однако,

как показали эксперименты, участки гликозилирования молекулы ALP делают ее лигандом наиболее подходящим для связывания с WGA (33).

WGA (Wheat Germ Agglutinin) молекулярная масса 36000 дальтон (2 субьединици по 18000 дальтон каждая). Специфические участки связывания на гликопротеидах N-ацетилгалактозамин (димер и триммер) и N- ацетилнейраминовая кислота (7, 17, 22).

WGA преципитирует костный изофермент ALP, который после центрифугирования выпадает в осадок, в то время как активность печеночного изофермента остается в надосадочной жидкости (20, 22, 29). Благодаря этому метод WGA-преципитации может быть использован для диагностической дифференциации активностей костного и печеночного изоферментов ALP

В некоторых лабораториях метод преципитации с WGA, наряду с методами термоинактивации и электрофореза, адаптировали для количественного определения активности костного изофермента ALP в сыворотке крови и его считают высоко достоверным (21, 22, 25, 26, 27).

Однако другие исследователи считают, что метод WGA преципитации не способен полностью разделить печеночный и костный ALP активности и что данный лектин, преципитируя костный изофермент из сыворотки крови, преципитирует и небольшое количество изофермента печеночного происхождения. Кроме того, по сообщению данных исследователей метод WGA преципитации оказался слабочувствительным для определения активности костного изофермента ALP, по крайней мере, в некоторых образцах сыворотки содержащих значительное количество данного изофермента, как было определено методами тепловой инактивации и иммуноферментного анализа (29).

Согласно их данным метод WGA преципитации позволяет определить только от 16% до 32% от общей активности костного изофермента ALP. А в калибраторе, приготовленном из клеток SaOS-2, метод WGA преципитации идентифицировал как костную только 9.7% от общей активности ALP. Поэтому, по их мнению, в плане чувствительности и специфичности термоинактивация и иммуноферментный анализ предпочтительнее, чем метод WGA преципитации. Как считают данные исследователи, специфическое применение всех методов, включая WGA преципитацию, для количественного определения активности костного изофермента ALP в сыворотке крови, может быть улучшено включением калибраторов: костного, печеночного, кишечного и когда необходимо, плацентарного.

Следует заметить, что в большинстве отечественных публикаций, посвященных ветеринарной медицине костной и гепатобилиарной патологии (6, 8, 9), а так же в фундаментальном пособии «Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных» Москва. «Аквариум». 2004 год (10, 13), метод WGA-преципитации для разделения печеночного и костного изоферментов ALP в сыворотке собак, вообще не упоминается.

Цель исследования

1. Выяснить, влияет ли WGA на каталитическую активность ALP нефракционированной сыворотки крови собак.

2. Определить оптимальные условия фракционирования изоферментов ALP методом преципитации с WGA для последующего использования с целью экспресс диагностики и дифференциальной диагностики костной или гепатоцеллюлярной патологии у собак.

3. Используя образцы сывороток, взятых от собак имеющих в анамнезе точно установленные заболевания, при которых общая сывороточная активность ALP превышает физиологический референт за счет либо BALP либо LALP изоферментов, выяснить степень клиническо-диагностической достоверности метода WGA-преципитации изоферментов ALP.

4. Проверить степень клинической достоверности метода изоферментной диагностики ALP в тесте преципитации с WGA, путем использования дополнительных методов диагностики в тех случаях, когда диагноз, поставленный на основе данных по изоферментному составу ALP в сыворотке крови, не подтверждал первоначальный диагноз, основанный на анамнестических данных.

5. На основании полученных данных дать практические рекомендации по использованию теста преципитации с WGA для дифференциальной диагностики костной или гепатоцеллюлярной патологии у собак.

Материалы и методы исследования

1. Объект исследования – сыворотки или плазмы крови взятые от собак, имеющих в анамнезе костную или гепатоцелюлярную патологию, или нарушение обмена глюкокортикостероидов (спонтанный или ятрогенный гиперадренокортицизм).

2. Активность щелочной фосфатазы в биологических жидкостях определяли «по конечной точке» методом Бессея-Лоури-Брока. и «кинетическим методом» с п-нитрофенилфосфатом. Оптическую плотность растворов измеряли на микрофотоколориметре МКМФ-02М при светофильтре 405 nm.

3. Величины оптической плотности «Е», полученные при измерении, переводили в международные единицы активности фермента – Ед/л (U/L).

4. Для разделения изоферментов ALP методом специфичеккой преципитации использовали лектин из зародышей пшеницы (Triticum vulgaris agglutinin (WGA)). Для отработки метода использовали WGA фирмы «SIGMA». Для дальнейших рутинных исследований использовали более дешовый WGA, выпускаемый лабораторией «LECTINOTEST» Национального медицинского университета города Львов.

5. Рабочий раствор WGA готовили, разводя леофилизат 0.15 М раствором хлорида натрия.

6. Процедуру разделения проводили следующим образом: исследуемую сыворотку и рабочий раствор WGA смешивали в равных объемах (по 50 мкл.) в пробирках «Эппендорф». Выдерживали при комнатной температуре 15–20 минут. После чего центрифугировали 15 минут при скорости 6000 об/мин. в угловом роторе на центрифуге ОПН – 8. После окончания процедуры центрифугирования надосадочную жидкость аккуратно переносили в чистую пробирку, а осадок ресуспендировали в 50 мкл. 0.15 М раствора хлорида натрия.

7. При определении активности ALP надосадочной фракции, учитывая, что в процессе разделения сыворотка смешивалась с раствором WGA из расчета 1/1, конечный результат умножали в 2 раза. При определении активности ALP осадка, полученный результат являлся окончательным, так как осадок ресуспендировался в растворителе количественно эквивалентном исходному объему сыворотки.

8. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы «Hrimer Biostatistics» версия 4,03.

9. Построение графиков проводили с использованием программы «Microsoft Graph» (11.5510.5606).

Результаты исследования

На рисунке 1 показаны результаты проверки влияния лектина WGA на каталитическую активность различных изоферментов ALP сыворотки крови собак. Согласно полученным результатам, непосредственное присутствие молекул WGA в инкубационной среде не оказывает ни активирующего, ни ингибирующего влияния (вне зависимости от концентрации лектина в среде) на каталитическую активность BALP, LALP и CALP изоферментов, доминирующих в сыворотке крови собак с костной, печеночной и эндокринной патологией соответственно.

На рисунке 2 показаны результаты исследования по подбору концентрации лектина дающей максимально контрастное разделение сывороточной активности ALP на осадок и надосадочную фракцию, что, в свою очередь, позволяет проводить дифференциальную диагностику патологий печени от патологий костной системы.

Согласно представленным данным, концентрация WGA 1,0 мг/мл. позволяет наиболее четко выявить различия в свойствах ALP доминирующей в сыворотке крови собак при костной и печеночной патологии. Т.е. при патологии печени большая часть активности сывороточной ALP (после кратковременной инкубации сыворотки с лектином и центрифугирования) остается в надосадочной фракции. В то время как при патологии костной системы эта активность из надосадочной фракции исчезает. Концентрация лектина 0,2 мг/мл. дает неотчетливую картину разделения, оставляя большую часть активности фермента в надосадочной фракции вне зависимости от характера патологии. Концентрация лектина 5,0 мг/мл., наряду с тем, что осаждает практически 100% активности ALP, содержащейся в сыворотке крови собак при костной патологии, способна преципитировать и осаждать большую часть активности ALP, содержащейся в сыворотке при патологии печени. Это в свою очередь делает результаты теста не репрезентативными и лишенными диагностической ценности.

Относительное соотношение активностей ALP в надосадочной и осадочной фракциях в зависимости от вида органопатологии донора сыворотки, представлено на рисунке 3.

Представленные данные иллюстрируют высокую специфичность теста WGA-преципитации в отношении фракционирования активностей ALP при костной и гепатобилиарной патологии. При заболеваниях печени, примерно 83% активности сывороточной ALP остается в надосадочной фракции. И, наоборот, около 83% ферментативной активности от исходной, оп-

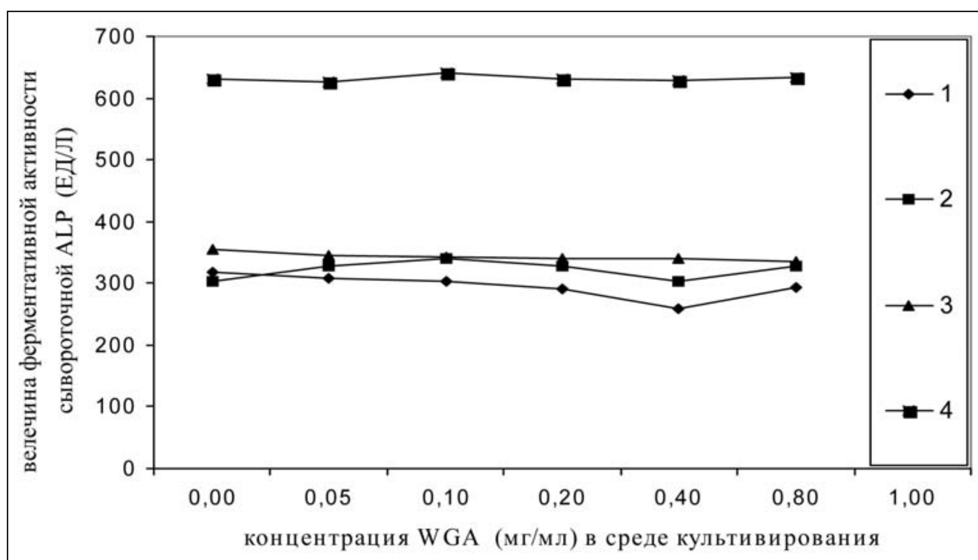


Рис. 1 Величина активности (ЕД/Л) сывороточной ALP, в зависимости от концентрации лектина в среде культивирования.
Донорами сывороток являлись собаки с высоким уровнем активности (выше референта) сывороточной ALP, причиной чего были следующие заболевания: 1 –рахит, 2 –гиперадренокортицизм , 3– деформирующий остеоартрит, 4– гепатит. Метод определения активности ALP по «конечной точке». Экспозиция 30 минут.

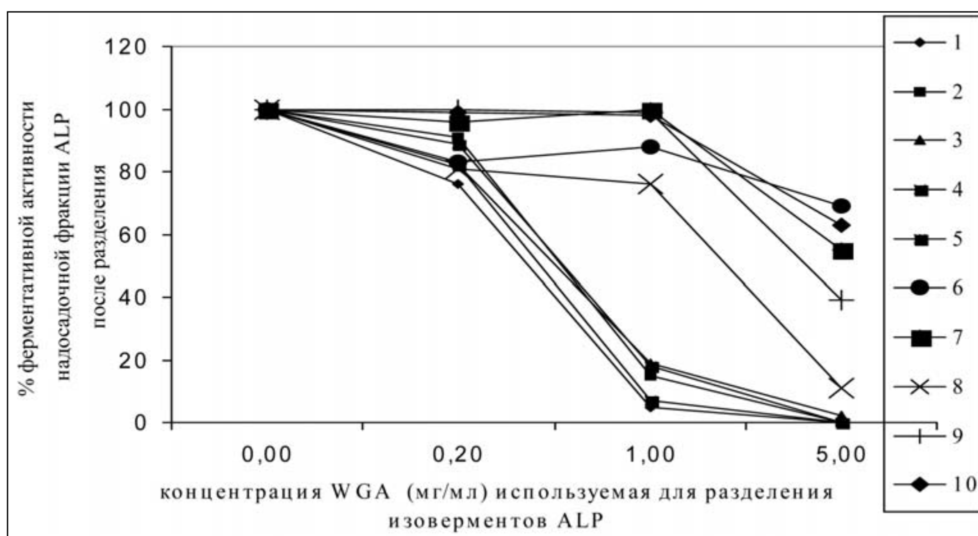


Рис. 2 Величина остаточной активности (в %) надосадочной фракции ALP, после процедуры разделения преципитацией с WGA, в зависимости от концентрации лектина и источника исследуемой плазмы.
Донорами плазмы являлись собаки с высоким уровнем активности (выше референта) сывороточной ALP, причиной чего были 1; 2; 3; 4; 5 – патология костной системы, 6; 7; 8; 9; 10 – патология гепатобилиарной системы.

ределяется в осадке при тестировании сывороток собак, имеющих в анамнезе заболевания костной системы. Причем следует отметить, что в процессе фракционирования сывороточной ALP методом WGA-преципитации, практически отсутствует потеря активности фермента. Т.е. суммарная активность надосадочной фракции и активность осадка, равна (и даже чуть превышает) по величине каталитической активности нефракционированной сыворотки или плазмы крови. Для сывороток, полученных от собак с патологией печени, суммарная активность фракций по отно-

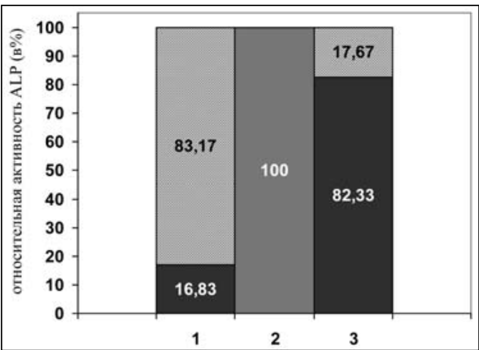


Рис. 3 Распределение активностей по фракциям при разделении изоферментов ALP сыворотки крови собак преципитацией с WGA.
Колонка № 1 показывает относительную ферментативную активность осадочной 16,83±3,7% и надосадочной 83,17±3,7% фракций при исследовании сывороток крови собак с патологией печени. (n=6). Колонка № 3 отражает относительную ферментативную активность осадочной 82,23±2,53% и надосадочной 17,67±2,53% фракций при исследовании сывороток крови собак с костной патологией (n=6). Колонка № 2 отражает относительную ферментативную активность нефракционированной сыворотки крви собак, и принята за 100%.

шению к активности нативной сыворотки составляет 108.9±2.02% (n=10). Для сывороток, полученных от собак с патологией костной системы, та же величина составляет 100.5±1.80% (n=10).

Чувствительность теста WGA-преципитации в отношении фракционирования активностей ALP при костной и гепатобилиарной патологии проверяли на сывороточных смесях, исходные компоненты которых имели различные соотношения между активностями ALP в надосадочной фракции и в осадке (таблица 1).

На основании данных фракционирования исходных компонентов, рассчитывали предполагаемое абсолютное и относительное распределение ферментативной активности по фракциям, которое должно получиться после тестирования смесей. Расчетную величину сравнивали с величиной, полученной экспериментально. Как следует из табличных данных, из шести, предварительно тестированных сывороток было получено три смешанных образца, которые в эксперименте дали результаты распределения ферментативной актив-

Таблица 1.

Проверка чувствительности метода определения изоферментного состава сывороточной ALP в преципитации с ЛЗП, используя сывороточные смеси, источниками которых были образцы с различным соотношением ферментативной активности осадка и надосадочной фракции. (Пояснения в тексте)

№	Ферментативная активность ALP исходных образцов плазмы (ЕД/Л)		ALP активность фракций исходных образцов	Соотношение при смешивании исходных образцов	Ферментативная активность фракций после разделения смешанных образцов плазмы (ЕД/Л)		
					Предполагаемая т.е. высчитанная на основании данных по разделению исходных образцов плазмы		Реальная т.е. полученная в эксперименте
1	204	Н.о*	33	19/1	Н.о	330	445
2	6010	О**	154		О	178	214
		Н.о	5964				
3	518	О	630	1/1	Н.о	К=1,9 393	К=2,08 382
		Н.о	255				
4	540	О	298		О	177	119
		Н.о	530				
5	365	О	64	1/1	Н.о	К=2,22 222	К=3,21 240
		Н.о	65				
6	395	О	315		О	214	226
		Н.о	378				
		О	112				
						К=1,04	К=1,06

*Н.о. – ферментативная активность надосадочной фракции.
**О - ферментативная активность осадка.

ности по фракциям близкие к расчетным.

Диагностическая эффективность теста WGA-преципитации для дифференциальной диагностики патологий со смешанными клиническими признаками иллюстрируется далее (таблица 2). В таблице приведены несколько примеров когда, в случае спорной, с клинической точки зрения симптоматики, при проведении дополнительных методов исследования, подтверждался именно тот диагноз, который был поставлен на основании тестирования фракционной активности сывороточной ALP методом WGA-преципитации.

Обсуждение полученных результатов. Выводы.

Таким образом, в результате проведенных исследований удалось выяснить, что присутствие даже высоких доз WGA в инкубационной среде не изменяет каталитических свойств основных изоферментов ALP сыворотки крови собак (рис 1). Это подтверждает данные о том, что лектины связываются с углеводной частью гликоконьюгатов без нарушения ковалентной структуры любых из узнаваемых ими гликозильных остатков (7, 17, 20, 21, 22, 33). Исследования, проведенные для определения наиболее оптимальных условий фракционирования изоферментов ALP методом преципитации с WGA показали (рис 2), что данный лектин не обладает абсолютной специфичностью к какому либо из изоферментов ALP и в дозе 5 мг/мл. и выше может преципитировать не только BALP изофермент доминирующий в сыворотках крови собак, имеющих костную патологию. Но и LALP изофермент преобладающий в сыворотках крови собак с патологией гепатобилиарной системы. Оптимальная концентрация лектина, при которой характер фракционирования коррелирует с видом органопатологии, составляет 1 мг/мл., и соответствует данным полученым из других источников (29). Данная концентрация лектина с высокой специфичностью преципитирует из сыворотки крови собак BALP изофермент, который можно отделить от непреципиторованного LALP изофермента центрифугированием. Таким образом, при патологии костной системы основная часть сывороточной ALP переходит в осадок, в то время, как при патологии гепатобилиарной системы – остается в надосадочной фракции (рис 3). Данный метод обладает специфичностью, чувствительностью и стабильностью, что продемонстрировано в эксперименте по фракционированию сывороточных смесей (таблица 1). Кроме того, дополнительные (уточняющие) методы исследования подтвердили диагностическую точность метода WGA-преципитации даже в тех случаях, когда диагноз, основанный на фракцион-

Таблица 2

Диагностическая роль определения изоферментного соотношения сывороточной ALP при постановке диагноза в том случае, когда отсутствуют патогномоничные признаки заболевания.

Животное. Клинические признаки.	Клинический диагноз	Активность ALP плазмы крови (ЕД/Л)			Диагноз основанный на:	
		Общая	После разделения		изоферментном составе сывороточной ALP	Других методах исследования
		TALP	Надосадок (LALP)	Осадок (BALP)		
Шарпей. 3 г. Астения, кахексия, хромота, утолщения и боли в суставах и трубчатых костях.	остеофиброз	400	305	113	гепатит	Хронический активный гепатит (биопсия печени)
Мастифф. 10 мес. Анорексия, диспепсия, утолщение трбчатых костей, боли суставов, хромота.	рахит	345	317	53	гепатит	Подострый гепатит (трансаминазы крови)
Нем.овчарка.2 мес. Анорексия, диспепсия, астения, боли при движении.	рахит	582	544	48	гепатит	Острый гепатит (трансаминазы крови, УЗИ печени)
Доберман. 8 лет. Пониженный аппетит, периодическая рвота, частый понос, астеничность, кахексичность	гастроэнтерит	390	377	55	гепатит	Хронический безжелтушный гепатит (трансаминазы крови,УЗИ печени)

ном разделении активностей сывороточной ALP противоречил анамнестическим данным (таблица 2).

Таким образом, анализ изоферментов сывороточной ALP методом WGA-преципитации является быстрым, удобным и точным для диагностики и дифференциальной диагностики костных и гепатобилиарных заболеваний у собак. Кроме того, методом WGA-преципитации может быть использован для предварительной очистки

BALP и LALP изоферментов сыворотки крови собак с целью их дальнейшего изучения.

SUMMARY

In the given scientific job specificity of method WGA-precipitation, in division hepatic and bone alkaline phosphatase blood of dogs is investigated. And as accuracy of this method in diagnostics and differential diagnostics of diseases of bones and a liver. On the basis of experimental data it is judged, that the method is sensitive enough and specific widely to be applied in the diagnostic and research purposes.

Литература

1. Асатиани В.С., Ферментные методы анализа. Москва. Наука. 1969.
2. Бокарев А. В. Дифференциальная диагностика заболеваний пальцев у собак опухолевого генеза (этиология, патогенез, лечение) Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук. Санкт-Петербург. 2003г.
3. Бокарев А.В., Стекольников А.А. Активность щелочной фосфатазы и концентрация сиаловых (нейраминовых) кислот в сыворотке крови у собак с некоторыми патологиями костной системы. Актуальные проблемы ветеринарной медицины: сборник научных трудов № 134 СПбГАВМ. 2002 г. Стр. 31-33.
4. Бокарев А.В., Стекольников А.А., Суворов О.Н. Виды ингибирующего влияния левамизола на ALP, в зависимости от изоферментного состава ее сывороточного пула. Структурно-функциональные особенности биосистем севера (особи, популяции, сообщества). Материалы конференции (26-30 сентября 2005 года, г. Петрозаводск). Часть 1 (А-Л). Петрозаводск. Издательство ПетрГУ. 2005 г. Стр. 50-52.
5. Глезер Г. А. Глезер М. Г. Нарушение водно-электролитного обмена и кислотно-основного состояния. Справочник терапевта. Под редакцией Палеева Н.Р. Т-1. Москва. Издательство «АСТ» 1999 г. стр. 216-237.
6. Дерхо М.А. Концевая С.Ю. Характеристика активности фосфомоноэстераз в ходе остеогенеза трубчатых костей. Уралбиовет.Апрель 2004 № 4(23)
7. Игнатов В.В. Углеводузнающие белки – лектины. Соросовский образовательный журнал. Биология. № 2, 1997 г, стр. 14-20.
8. Конопатов Ю.В., Рудаков В.В. Биохимические показатели кошек и собак в норме и при патологии. Методическое пособие. Санкт-Петербургская Государственная Академия ветеринарной медицины. 1998.
9. Лукьяновский В.А., Белов А.Д., Беляков И.М.,Болезни костной системы животных. Москва. «Колос». 1984.
10. Майкл Д. Уиллард, Дэвид К. Тведт. Нарушение функции желудочно-кишечного тракта, поджелудочной железы и печени. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных. Москва. «Аквариум». 2004 г. стр. 194-235.
11. Меньшиков В.В. и др. Лабораторные методы исследования в клинике. Москва. Медицина. 1987.
12. Погосбеков М. Р. (под редакцией) Анализ крови и мочи. Как его интерпретировать? Москва. «Мир». 2001 г.
13. Ричард У. Нельсон, Грант Г. Торивальд, Майкл Д. Уиллард. Нарушение эндокринной системы, метаболизма и жирового обмена. Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных. Москва. «Аквариум». 2004 г. стр.155-194.
14. Стекольников А.А., Бокарев А.В. Прогностическое значение печеночного изофермента ALP при лечении собак циклофосфаном. Структурно-функциональные особенности биосистем севера (особи, популяции, сообщества). Материалы конференции (26-30 сентября 2005 года, г. Петрозаводск). Часть 2 (М-Я). Петрозаводск. Издательство ПетрГУ. 2005 г. Стр. 152-154.
15. Цыкунов М.Б. Болезни костей. Справочник терапевта. Под редакцией Палеева Н.Р. Т-2. Москва. Издательство «АСТ» 1999 г. стр. 640-661.
16. Шулутко Б. И. Заболевания печени. Внутренние болезни. Лекции для студентов и врачей. Под редакцией Б. И. Шулутко. Санкт-Петербург 1994 г. Том 1. стр 336–465.
17. Элиот Д., Досон Р., Элиот У., Джонс К. Справочник биохимика. Москва. «Мир». 1991.
18. Bacci G, Picci P, Ferrari S, Orlandi M, Ruggieri P, Casadei R, Ferraro A, Biagini R, Battistini A. Prognostic significance of serum alkaline phosphatase measurements in patients with osteosarcoma treated with adjuvant or neoadjuvant chemotherapy. Cancer. 1993 Feb 15;71(4):1224-30.
19. Bacci G, Picci P, Orlandi M, Avella M, Manfrini M, Pignatti G, Dallari D, Manduchi R. Prognostic value of serum alkaline phosphatase in osteosarcoma. Tumori. 1987 Aug 31;73(4):331-6.
20. Bain PJ: Liver. In: Latimer KS, Mahaffey EA, Prasse KW: Duncan and Prasse›s Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology, 4th ed. Ames, Iowa State Press, 2003, pp. 193-214.
21. Calderon de la Barca AM. Identify canine alkaline phosphatase isoenzymes with lectins. Journal of Biochemical & Biophysical Methods. 1994. 36(2):135-141.
22. Calderon de la Barca AM. Jensen AL. Bog-Hansen TC. Affinity methods with lectins: a tool to identify canine alkaline phosphatase isoenzymes. Journal of Biochemical & Biophysical Methods. 27(3):169-180, 1993 Oct.
23. Capen C. C. Calcium-Regulating Hormones and Metabolic Bone Disease. Textbook of Small Animal Orthopaedics, C. D. Newton and D. M. Nunamaker (Eds.) (1-Jan-1985).
24. Delmas Pierre D. Biochemical markers in valuation of metabolism of bone tissue.Clinical Chemistry, 1985.Vol 30, pp. 247-262.
25. Dennis L. Broyles,1 Randall G. Nielsen,1 Elizabeth M. Bussett,1 W. Douglas Lu,1 Isaac A. Mizrahi,1 Patricia A. Nunnelly,1 Tram A. Ngo,1 Julia Noell,1 Robert H. Christenson,2,3 and Barry C. Kress1*Analytical and clinical performance characteristics of Tandem-MP Ostase, a new immunoassay for serum bone alkaline phosphataseClinical Chemistry 44:10 2139–2147 (1998)
26. Ehrhart N, Dernell WS, Hoffmann WE, Weigel RM, Powers BE, Withrow SJ. Prognostic importance of alkaline phosphatase activity in serum from dogs with appendicular osteosarcoma: 75 cases (1990-1996). J Am Vet Med Assoc. 1998 Oct 1;213(7):1002-6.

27. Garzotto CK, Berg J, Hoffmann WE, Rand WM. Prognostic significance of serum alkaline phosphatase activity in canine appendicular osteosarcoma. J Vet Intern Med. 2000 Nov-Dec;14(6):587-92.
28. J. Leland Raymond, Heather L. Tarpley, Kenneth S. Latimer, Perry J. Bain. Alkaline Phosphatase Activity as a Clinical Chemistry Diagnostic Aid. Department of Pathology (Tarpley, Latimer), College of Veterinary Medicine, University of Georgia, Athens, 2004. GA 30602-7388.
29. John R. Farley,1' Susan L. Hall,2 Daniel Ilacas,2 Christopher Orcutt,3 Barbara E. Miller,3 Craig S. Hill,4 and David J. Baylink1'2 Quantification of Skeletal Alkaline Phosphatase in Osteoporotic Serum by Wheat Germ Agglutinin Precipitation, Heat Inactivation, and a Two-Site Immunoradiometric Assay. CLINICALCHEMISTRY, Vol. 40, No. 9, 1994, 1749-1756
30. Karayannopoulou M., Koutinas A.F., Polizopoulou Z.S., Roubies N., Fytianou A., Saridomichelakis M.N., Kaldrymidou E. Total Serum Alkaline Phosphatase Activity in Dogs with Mammary Neoplasms: a Prospective Study on 79 Natural Cases. Journal of Veterinary Medicin, Series A. Desember 2003, vol. 50, no. 10. Pp. 501 – 505.
31. Lenehan T.M. and Fetter A. W. Hypertrophic Osteodystrophy. Textbook of Small Animal Orthopaedics. C. D. Newton and D. M. Nunamaker (Eds.) (1-Jan-1985)
32. M. J. Hoenerhoff, M. Kiupel, D. Rosenstein and R. R. Pool. Multipotential Osteosarcoma with Various Mesenchymal Differentiations in a Young Dog Vet Pathol. 2004. Vol. 41. Pp. 264-268.
33. Mohammad Morad Farajollahi*1, David B. Cook2 and Colin H. Self2 An Alkaline Phosphatase Lacking Wheat Germ Agglutinin Binding Sites; Useful Enzyme for Lectin Assays with Comparable Activity to the Calf Enzyme. Iran. Biomed. J. 6 (4): 105-109, 2002.
34. Sanecki R. K., Hoffmann W. E., Gelberg H. B.and Dorner J. L. Subcellular location of corticosteroid-induced alkaline phosphatase in canine hepatocytes. Veterinary Pathology, Vol 24, Issue 4 pp. 296-301.
35. T. J. Rosol, D. J. Chew, C. G. Couto, R. D. Ayl, L. A. Nagode and C. C. Capen. Effects of mithramycin on calcium metabolism and bone in dogs. Veterinary Pathology, Vol 29, Issue 3, pp 223-229.
36. Teske E, Rothuizen J, de Bruijne JJ, Mol JA. J Chromatogr. Separation and heat stability of the corticosteroid-induced and hepatic alkaline phosphatase isoenzymes in canine plasma.1986 Nov 21;369(2):349-356.

А. Коломыцев, В. Филоматова, А. Орлов, А. Книзе

СОВРЕМЕННЫЕ СРЕДСТВА БОРЬБЫ ПРИ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА В СТРАНАХ МИРА, ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ В 2004-2005 гг.

С целью изучения международного опыта борьбы с особо опасными болезнями животных целесообразно использовать еженедельные информационные листки «Disease information", составляемые международным эпизоотическим бюро (МЭБ) по данным срочных донесений, идущих из стран, где произошла вспышка болезни. Они рассылаются по странам и публикуются в Интернете. Информация касается как первого сообщения о установлении болезни, так и последующего развития событий о принимаемых мерах борьбы с инфекцией. Часто в информационных листках приводятся сведения о ликвидации заболевания и объявлении страны свободной от данной инфекции. На основании этого международного источника информации была рассмотрена эпизоотическая ситуация по болезни Ньюкасла (БН) в ряде стран.

Целью данного сообщения является краткий анализ средств диагностики и противоэпизоотических мероприятий в комплексе с применением живых или инактивированных вакцин против болезни Ньюкасла и санитарного убоя птиц, проводимый в странах мира.

Результаты анализа

В настоящее время в мире существуют как бы две системы борьбы с БН, которые весьма сходны с гриппом птиц. Рассмотрим их на примере некоторых стран.

Опыт ликвидации БН в Финляндии. Первое сообщение о вспышке БН в стране появилось 22 июля 2004 г. Согласно директиве 92/66/ЕЕС, разработанной и утвержденной ветеринарной организацией Европейского Союза (ЕЕС), там была установлена 3-километровая защитная зона и 10-километровая предохранительная зона. Вакцинация птиц была запрещена. После проведения тотального убоя всех птиц (12 тысяч) и общих ветеринарных мероприятий, в октябре в обработанные помещения, где содержались птицы, поставлены сто цыплят сентинелей для тестирования на наличие в помещениях вируса БН. Уже через месяц были получены отрицательные результаты. Вирус не сохранился в помещениях, и как результат – цыплята не заболели. На 24 января холдингу предложено считать его хозяйство благополучным по БН.

БН в Болгарии. В регионе Kardjali в од-